

Zur Wirkung verschiedener Phosphate
und Polyphosphate auf das Skelett mehrerer
Rattengenerationen

1. Elterngeneration

Hildegard Bous

1961

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. K. Zipf

ZUR WIRKUNG VERSCHIEDENER PHOSPHATE UND
POLYPHOSPHATE AUF DAS SKELETT MEHRERER RATTENGENERATIONEN

I. ELTERNGENERATION



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität
zu München

von

Hildegard Bous
aus Köln

1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. A. Meyn

Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Zipf

Tag der Promotion: 24. II. 1961



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung

Allgemeiner Teil (Literatur)	2
------------------------------	---

1.	Definition und Chemie der Polyphosphate	2
2.	Verwendung der Polyphosphate in Lebensmitteln	3
3.	Ortho- und Polyphosphate im Stoffwechsel	3

Eigene Untersuchungen	7
-----------------------	---

1.	Tiermaterial	7
2.	Futter	7
3.	Analytische Methodik	8
3.1	Gewinnung und Aufbereitung der Knochen	8
3.2	Calcium - Bestimmung	9
3.2.1	Prinzip	9
3.2.2	Reagenzien und Lösungen	9
3.2.3	Durchführung der Analyse	9
3.3	Phosphor - Bestimmung	10
3.3.1	Prinzip	10
3.3.2	Reagenzien und Lösungen	10
3.3.3	Durchführung der Analyse	10
4.	Ergebnisse	11
4.1	Entwicklung der Versuchstiere (Gewichtsveränderung)	11
4.2	Calcium- und Phosphorgehalt des Gesamtknochens	16
4.3	Calcium- und Phosphorgehalt der Asche	18

Diskussion	19
------------	----

Zusammenfassung	21
-----------------	----

Literaturverzeichnis	22
----------------------	----

Lebenslauf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555225_0016

EINLEITUNG

Bei der Gewinnung und Verarbeitung verschiedenster Nahrungsmittel (Schmelzkäse, Kondensmilch, Zucker, Backpulver etc.) werden Polyphosphate als Bindemittel, Stabilisatoren, Emulgatoren, Puffer und zu ähnlichen Zwecken verwendet.

Es liegt im Interesse der menschlichen Gesundheit nahe, zu untersuchen, ob die dabei gebräuchlichen Konzentrationen eine schädliche Wirkung auf den Organismus, vor allem auf das Knochensystem, haben.

Im Rahmen solcher Untersuchungen über mehrere Generationen von Versuchsratten erhielt ich am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München die Aufgabe, den Einfluß von sieben verschiedenen Phosphaten bzw. Polyphosphaten auf das Skelett der Eltern generation zu ermitteln.

ALLGEMEINER TEIL (LITERATUR)

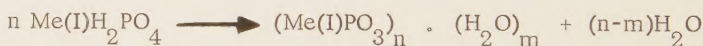
1. Definition und Chemie der Polyphosphate

Die Polyphosphate werden nach THILO (32, 33) zu den kondensierten Phosphaten gerechnet, auf welche hier wegen der häufig anzutreffenden uneinheitlichen Auffassungen kurz eingegangen werden soll.

Die Stoffklasse der kondensierten Phosphate umfaßt:

- a) die Metaphosphate mit der allgemeinen Formel $\text{Me}_n^{\text{I}} \left[\text{P}_n \text{O}_{3n} \right]$
Diese sind ringförmige Anionen, von welchen bis jetzt nur Salze und Ester der tri- und tetrameren Säuren $\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_9$ und $\text{H}_4\text{P}_4\text{O}_{12}$ bekannt sind.
- b) die Polyphosphate mit kettenförmigen Anionen. allgemeine Formel $\text{Me}_{n+2}^{\text{I}} \left[\text{P}_n \text{O}_{3n+1} \right]$ bzw. $\text{Me}_n^{\text{I}} \left[\text{H}_2 \text{P}_n \text{O}_{3n+1} \right]$. Der Kondensationsgrad (n) kann Werte von 1 bis 10^6 annehmen. Hierher gehört auch das als Hexametaphosphat bezeichnete Homologe.
- c) die Isometaphosphate, deren Anionen aus ring- und kettenförmigen Gliedern zusammengesetzt sind. Von ihnen sind nur die tetrameren Äthyl- und Isopropylester bekannt.
- d) die vernetzten Polyphosphate, deren Anionen aus kettenförmigen, über Sauerstoffbrücken vernetzten Polyphosphaten bestehen.

Die kondensierten Phosphate, also auch die Polyphosphate, lassen sich durch thermische Entwässerung saurer Orthophosphate nach dem Schema:



darstellen.

Dabei entstehen von den Reaktionsbedingungen abhängige Gemische aus a) bis einschließlich d).

Die Polyphosphate sind die größte und bisher am besten untersuchte Gruppe der kondensierten Phosphate. Die ihnen zugrunde liegenden Säuren besitzen eine ihrem Kondensationsgrad entsprechende Anzahl stark und zwei schwach dissoziierende Wasserstoffatome, so daß die Lösungen ihrer neutralen Salze alkalisch reagieren. Bei der o.a. Darstellung sind die schwach dissoziierenden Wasserstoffatome jedoch meist nicht durch Metall ersetzt und deshalb titrimetrisch bestimmbar. Da sie endständig in den Ketten vorliegen, läßt sich auf diese Weise die mittlere Kettenlänge der Polyphosphate bestimmen (29).

Nach ihrem Verhalten bei chromatographischen Trennversuchen können die Polyphosphate in die sog. Oligophosphate mit Kondensationsgraden bis 10 und in höhermolekulare Phosphate unterteilt werden. Eine einwandfreie Trennung und Reindarstellung ist bis jetzt erst bei den Oligophosphaten möglich gewesen.

Die höhermolekularen Polyphosphate sind in neutraler oder schwach alkalischer Lösung bei Zimmertemperatur relativ beständig. (Eine hydrolytische Spaltung tritt erst bei höheren Temperaturen ein.) Sie sind imstande, mehrwertige Ionen, z.B. Ca^{++} , ähnlich wie feste Ionenaustauscher, zu binden.

Die enzymatische Spaltbarkeit kondensierter Phosphate hängt von ihrem Bautyp ab. Es ist festgestellt worden, daß einige Phosphatasen in spezifischer Weise auf gewisse Typen ansprechen (20).

2. Verwendung der Polyphosphate in Lebensmitteln

Nach den neuen in Deutschland geltenden Gesetzen und Verordnungen über Lebensmittel ist der Zusatz von Ortho- und Polyphosphaten in Lebensmitteln erlaubt außer in Fleisch und Fleischerzeugnissen, Essenzen und Aromen, Tabak und Tabakerzeugnissen, Trinkwasser sowie Milch und Milcherzeugnissen. Ihre Verwendung in Fleischwaren ist nur zugelassen bei Fleischsalat und in Überzugsmassen für Fleischwaren in höchstens 2%iger Mischung mit Konservierungstoffen. Bei Käse ist die erlaubte Menge auf 3,5 % der verarbeiteten Rohware beschränkt.

Das bedeutet eine große Einschränkung gegenüber den bis zum 21.12.1958 geltend gewesenen Bestimmungen, denn bis dahin durften die Phosphate auch Milcherzeugnissen, Trinkwasser und Fleischwaren (letzteren jedoch nur in Niedersachsen, Hessen und Hamburg) zugesetzt werden (27, 35).

Die stark verbreitete Verwendung der Phosphate, sowohl in Deutschland als auch in anderen Ländern, beruht auf ihrer vielseitigen Wirkung und der Notwendigkeit, die Lebensmittelherstellung und -behandlung zu technisieren (2).

Sie bewirken durch Wasseraufnahme eine Quellung der Muskelfaser in Brühwurst (35), sie verbessern den Darm von Dosenwürstchen (6), und sie "erhöhen die Extraktion von fibrillärem Eiweiß aus Muskelbreiaufschwemmungen gegenüber anderen Salzen um ein Vielfaches" (KOTTER: 16). Als Stabilisatoren hemmen sie die Milchgerinnung bei der Kondensmilchherstellung und die Blutgerinnung bei der Blutplasmagewinnung(27), weiter verhindern sie das Schrumpfen und Verfärben gekochter Fleischwaren, das Klebrigwerden von Zuckerwaren und das Feuchtwerden von Salzmischungen. Sie dienen ferner als Schmelzsalze bei der Schmelzkäseherstellung, als Puffer, Emulgatoren und zur Ergänzung des Mineralstoffbedarfs (1).

3. Ortho- und Polyphosphate im Stoffwechsel

LANG und Mitarbeiter (18) fütterten Ratten mit Kaliummetapolyphosphat (KURROL'schem Salz) und Natriumhexametaphosphat (GRAHAMSalz). Sie stellten fest, daß der größere Prozentsatz der Polyphosphate ungespalten, ein kleinerer Prozentsatz gespalten zu Orthophosphaten in Kot und Harn ausgeschieden werden. 10 bis 20 % der Polyphosphate wurden unvollständig gespalten resorbiert.

VAN ESCH und Mitarbeiter (34) verfütterten an Ratten Kaliummetapolyphosphat (KURROL'sches Salz), Tetranatriumpyrophosphat und Dinatriumpyrophosphat und fanden bei kleinen Gaben nur Orthophosphat, bei sehr großen Gaben kleine Mengen von Polyphosphaten in Kot und Harn. Sie nehmen eine fast vollständige Spaltung der Polyphosphate zu Orthophosphaten im Darm an.

Zu einem ähnlichen Ergebnis bei Ratten kamen SCHREIER und NÖLLER (31). Sie stellten fest, daß der Abbau der Polyphosphate durch Darmbakterien bewirkt wird.

HAHN, JAKOBI und SEIFEN (12) sehen den Ort der Aufspaltung als wichtig an: im Dickdarm zu Orthophosphat aufgespaltene Polyphosphate werden nicht resorbiert.

Im Gegensatz zu diesen Autoren konnten GOSSELIN, ROTHSTEIN, MILLER und BERKE (9) bei der Verfütterung von GRAHAMSalz und Tripolyphosphat an Ratten und Kaninchen den Ort der Hydrolyse nicht feststellen.

Wenn man die Versuchsergebnisse der oben zitierten Autoren zusammenfaßt, ist zu sagen, daß etwa 10 bis 20% der verfütterten Polyphosphate resorbiert werden, davon der größte Teil nach Aufspaltung in Orthophosphate. Der Prozentsatz der tatsächlich unverändert resorbierten Polyphosphate ist demnach sehr gering.

Unter diesen Umständen erhebt sich nicht nur die Frage, welche Rolle Polyphosphate im Stoffwechsel spielen, sondern auch die, wie sich eine vermehrte Aufnahme von Orthophosphaten auswirkt.

Kleinere Mengen Orthophosphate über den normalen Bedarf hinaus werden vom gesunden Organismus offenbar reaktionslos ausgeschieden. Das ergibt sich aus den Untersuchungen von LAUERSEN (17) über die Verträglichkeit von Orthophosphat in Erfrischungsgetränken ebenso wie aus den Versuchen von CORBIAN (5), JONES und RAPOPORT (15) sowie SALVESEN (28), die Menschen und Hunden bis zu 2 g Dinatriumphosphat per os oder durch Magensonde verabreichten. Die Wirkung scheint jedoch vom pH-Wert der Phosphatlösung abhängig zu sein. Wenn dieser etwa dem pH-Wert des Blutes entsprach, trat eine Hypocalcaemie auf (28).

Bei größeren Orthophosphatdosen (8-15 g) wurden neben Hypocalcaemie auch Hypoglucoesaemie und tetanische Krämpfe beobachtet, die sich durch Injektion von Calciumchlorid beseitigen ließen (28).

McKAY und OLIVER (22) stellten bei Fütterungsversuchen an Ratten mit Orthophosphorsäure und Orthophosphaten in 5%iger Konzentration Nierenverkalkungen fest.

Bekanntlich ist für das Skelett das Verhältnis Calcium zu Phosphor in der Nahrung wichtig. Es soll nach FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ (8) um 1,5 betragen; BRONSCH gibt als optimale Relation für wachsende Tiere 1 bis 1,5 und für erwachsene 1,5 bis 2 an (4). Eine starke Verschiebung des Calcium-Phosphor-Verhältnisses zu Gunsten des Phosphors führt bei wachsenden Tieren zu rachitisähnlichen Erscheinungen, bei erwachsenen zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Entkalkung des Skeletts. Die Ursache kann

eine Überfunktion der Parathyreoideae sein, da ein überhöhter Serum-Phosphat-spiegel (ebenso wie ein erniedrigter Calciumspiegel) den adäquaten Reiz für die Nebenschilddrüsenfunktion darstellt (23). Allerdings ist zu bedenken, daß die Resorption des Phosphats und damit die Höhe des Phosphatspiegels unter anderem von der Anwesenheit basischer Valenzen abhängig ist, also bei extremem Calciummangel möglicherweise beeinträchtigt sein kann.

Aus dem allem ergibt sich jedoch, daß eine Untersuchung der Phosphatwirkung auf das Skelett auf jeden Fall angezeigt ist.

Teilweise ähnliche Befunde wie nach Verabreichung von Orthophosphat wurden auch nach P o l y phosphat-Gaben erhoben.

GOSSELIN, TIDBALL und Mitarbeiter (10) fanden nach peroraler und parenteraler Applikation von Natriumpyrophosphat, Natriumtripolyphosphat und Natriumhexametaphosphat eine Stoffwechselacidose und bei parenteraler Applikation außerdem eine Hypocalcaemie.

Nach anderen Untersuchern (12) stellen sich nach Verabreichung von 3 % Polyphosphate enthaltendem Futter bei der Ratte eine vorübergehende, bei 5%iger Konzentration eine dauernde Wachstumshemmung und Nierenverkalkungen ein. Diese wurden auch von VAN ESCH und Mitarbeitern (34) beobachtet. Der Calcium- und Phosphorgehalt in der Asche der Gesamttiere war nicht verändert (12).

Diese Polyphosphatwirkungen sind nach HAHN et al. (11) nicht vom Polymerisationsgrad der Phosphate, sondern nur von der aufgenommenen Menge abhängig.

Neben solchen Berichten über eine schädliche Wirkung der Polyphosphate werden auch Untersuchungen mitgeteilt, nach welchen bei oraler Verabreichung (mit Sonde) von Natriumpyrophosphat, Natriumtripolyphosphat und Natriumhexametaphosphat an der Ratte keine nachteiligen Folgen eintreten (31).

Auch bei der Prüfung auf akute Toxizität konnte ZIPF (37) nur eine geringe toxische Wirkung feststellen. Nach seinen Untersuchungen beträgt die DL_{50} /1 Tag bei der Maus z.B. für Carbamidoorthophosphat (bzw. Natriumhexametaphosphat) nach peroraler Applikation 5,84 (7,25) mg/kg, nach intravenöser Applikation 0,683 (0,062)mg/kg, nach subkutaner Applikation 4,00 (1,30)mg/kg Maus.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Es wurde untersucht, wie hoch der Calcium- und Phosphorgehalt von Femur, Tibia und Fibula von Versuchsratten ist, welche längere Zeit mit Polyphosphaten gefüttert wurden.

1. Tiermaterial

Die Ratten wurden im November 1958 in Versuch genommen und im August 1959 getötet. Der Fütterungsversuch dauerte also 10 Monate. Es wurden 150 Tiere in 15 Gruppen (14 Testgruppen und eine Kontrollgruppe mit je 10 Tieren) eingeteilt. Davon war eine Hälfte männlichen, die andere weiblichen Geschlechts. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn 6 Wochen alt und etwa 50-80 g schwer. (S. hierzu auch Tab. 1-15) Im Verlaufe des Versuchs starben 41 Tiere an interkurrenten Krankheiten; die Zahl der im August 1959 getöteten Tiere beträgt 109.

2. Futter

Das Futter bestand aus einem dickflüssigen Brei mit einem Trockensubstanzgehalt von 30 %. Die Trockensubstanz setzte sich zusammen aus

Weizenschrot	1 Gewichtsanteil
Haferflocken	1 "
Milchpulver	1/2 "
Trockenhefe	1/10 "
Salzmischung nach McCOLLUM und SIMMONDS (21)	1/10 "
die Salzmischung aus	
Calciumlactat	130,0
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$	54,0
K_2HPO_4	95,4
NaCl	17,3
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	34,7
MgSO_4	36,6 und
Eisen-III-citrat $\times 6 \text{ H}_2\text{O}$	11,8 Gewichtsteilen.

Dazu wurde einmal wöchentlich frische Rinderleber und Gras gegeben. Die Tiere nahmen Futter und Wasser ad libitum auf.

Die Phosphate wurden dem Futter nach dem Kochen zugesetzt. Es kamen zur Anwendung:

(Poly)phosphat	Gruppe	Konzentration (% der Trockensubstanz)
ohne Zusatz	P IV	---
Mononatriumorthophosphat	P II	0,5
$\text{Na H}_2\text{PO}_4$	P III	1,8
Carbamidoorthophosphat	P VIII	1,8
$\text{CO}(\text{NH}_2) \text{H}_2\text{PO}_4$	P XIII	0,5
Dinatriumpyrophosphat	P IX	1,8
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	P X	0,5
Tetranatriumpyrophosphat	P XI	1,8
$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	P XII	0,5
Natriumtripolyphosphat	P XIV	0,5
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	P XV	1,8
Hexanatriumtetrapolyphosphat	P V	1,8
$\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$	P VI	0,5
Natriumhexametaphosphat	P I	0,5
$(\text{Na PO}_3)_6$	P VII	1,8

3. Analytische Methodik

3.1 Gewinnung und Aufbereitung der Knochen

Die Ratten werden mit Äther getötet und nach Entfernen der Eingeweide in verdünnter NaOH (pH~8) etwa eine Stunde gekocht. Dann können die Knochen

von den Weichteilen befreit werden. Nach gründlichem Abspülen folgt 7 Tage langes Trocknen bei ca. 100°C , anschließend Veraschung im Muffelofen bei 600°C .

3.2. Calcium-Bestimmung

3.2.1 Prinzip

Pulverisierte Knochenasche wird in HCl gelöst, das vorhandene Phosphat mit Eisen-III-chlorid gefällt (30) und Calcium im Filtrat titrimetrisch bestimmt (3).

3.2.2 Reagenzien und Lösungen

a) Ammoniumacetatpufferlösung.

5,94 ml Eisessig werden verdünnt, mit 3,89 ml Ammoniak (25 %ig) versetzt und ad 100 ml aufgefüllt.

b) Eisen-III-chloridlösung.

7,27 ml Liquor ferrisesquichlorati werden mit aqua dest. ad 100 ml aufgefüllt.

c) Molare Salzsäurelösung.

416 ml 37 %iger HCl (Dichte $20^{\circ} = 1,186$) werden mit aqua dest. ad 5000 ml aufgefüllt.

d) 0,01 normale HCl

e) 0,01 normales NH_4OH (R)

f) 0,10 normale Titriplex (R) -Lösung (MERCK)

g) Murexid (R) (MERCK)

Murexid wird mit NaCl gemischt im Verhältnis 1:500.

3.2.3 Durchführung der Analyse

30 mg Knochenasche werden in einem Erlenmeyerkolben in 2 ml HCl vollkommen gelöst und mit aqua dest. auf etwa 100 ml aufgefüllt. Durch tropfenweises Zugabe von sehr schwach konzentrierter HCl- und Ammoniaklösung wird der pH-Wert auf 7,0 eingestellt. Nungibt man unter Umschwenken je 2 ml FeCl_3 -Lösung und Ammoniumacetatpufferlösung zu und kocht kurz auf. Dann wird auf ca. 20°C abgekühlt, in einem Messkolben mit aqua dest. auf 300 ml aufgefüllt und nach mehrmaligem Umschwenken filtriert. 250 ml des Filtrats werden mit 10 ml normaler NaOH versetzt und filtriert. Die Titration wird mit Titriplex (R) (MERCK) und Murexid als Indikator vorgenommen. Das Ergebnis wird berechnet nach der Formel

Ca (% der Knochenasche)

$$= \frac{\text{verbrauchte Titriplexlösung in ml} \cdot 300 \cdot 100 \cdot 4,008}{\text{Volumen der titrierten Lösung} \cdot \text{Ascheeinwaage in mg}}$$

3.3 Phosphor-Bestimmung

3.3.1 Prinzip

Knochenasche wird in Salpetersäure gelöst, das vorhandene Phosphat mit Ammoniummolybdat gefällt, der Niederschlag in Natronlauge gelöst und deren Überschuß titrimetrisch bestimmt.

3.3.2 Reagenzien und Lösungen

a) Ammoniummolybdatlösung. (26)

75 g gepulvertes Ammoniummolybdat werden unter Erwärmen in 200 ml verdünntem Ammoniak (aus 165 ml aqua dest. und 35 ml Ammoniak 0,91) gelöst. Hierzu fügt man eine Lösung von 150 g Ammoniumnitrat in ca. 150 ml aqua dest. und füllt die Mischung auf ein Volumen von 500 ml auf. Die Lösung wird in dünnem Strahle unter Umrühren in 500 ml halbkonzentrierte Salpetersäure eingegossen. Nach Stehen über Nacht wird die Lösung filtriert.

b) Salpetersäure.

35,2 ml 25 %ige HNO_3 werden mit aqua dest. ad 1000 ml aufgefüllt.

c) Kaliumnitratlösung

50 g KNO_3 werden mit aqua dest. ad 5000 ml aufgefüllt.

d) 0,1 normale NaOH

e) 0,1 normale H_2SO_4

f) Phenolphthalein 1 %ig in 70 % Aethanol.

g) Methylorange 0,1 %ig in wässriger Lösung.

3.3.3 Durchführung der Analyse

10 mg Asche werden in 5 ml HNO_3 gelöst und mit 10 ml aqua dest. sowie 5 ml Ammoniummolybdatlösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wird eine halbe Stunde bei 30°C im Wasserbad gehalten und anschließend mit HNO_3 quantitativ in ein Glasfilter (G 4) überführt. Der Niederschlag muß so lange mit KNO_3 gewaschen werden, bis das Filtrat gegen Methylorange nicht mehr sauer reagiert. Nach Lösen des Niederschlages mit 20 ml 0,1 normaler NaOH folgt die titrimetrische Bestimmung des Laugenüberschusses mit 0,1 normaler H_2SO_4 und Phenolphthalein als Indikator.

Das Ergebnis wird berechnet nach der Formel

P (% der Knochenasche)

$$= \frac{(\text{vorgelegte NaOH in ml} - \text{verbr. } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ in ml}) \cdot 0,1348 \cdot 100}{\text{Ascheeinwaage in mg}}$$

4. Ergebnisse

4.1 Entwicklung der Versuchstiere (Gewichtsveränderung)

In den Tabellen 1 - 15 ist die Zunahme des Körpergewichtes der männlichen Tiere während des Fütterungsversuches ersichtlich. Es wurden die arithmetischen Mittelwerte für jede Gruppe sowie die mittlere Abweichung $\left[\frac{s}{\sqrt{n}} \right]$ (36) derselben errechnet.

Die weiblichen Tiere waren z. T. gravid und wurden daher nicht gewogen.

(In den Tabellen 1-15 bedeuten: t das Alter der Versuchstiere in Wochen; g den arithmetischen Mittelwert einer Testgruppe; m die mittlere Abweichung vom Mittelwert.)

Tab. 1: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung phosphatfreien Futters (Gruppe P IV = Kontrollgruppe)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	66,8	124,8	150,4	202,8	240,6	255,4	271,4
m	<u>+8,3</u>	<u>+8,5</u>	<u>+13,1</u>	<u>+17,1</u>	<u>+20,2</u>	<u>+19,7</u>	<u>+16,4</u>
t	34	38	42	46			
g	296,4	321,5	342,6	351,2			
m	<u>+20,6</u>	<u>+17,1</u>	<u>+20,3</u>	<u>+26,1</u>			

Tab. 2: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5% Natriumhexametaphosphat im Futter (Gruppe P I)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	72,6	117,0	131,5	181,2	217,7	252,3	267,0
m	<u>+2,9</u>	<u>+11,3</u>	<u>+17,4</u>	<u>+24,5</u>	<u>+28,6</u>	<u>+11,0</u>	<u>+19,9</u>
t	34	38	42	46			
g	295,0	303,0	322,5	348,0			
m	<u>+25,0</u>	<u>+22,0</u>	<u>+17,5</u>	<u>+37,0</u>			

Tab. 3: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Mononatriumorthophosphat im Futter (Gruppe P II)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	66,0	113,4	124,0	187,4	234,2	259,2	274,2
m	<u>+8,9</u>	<u>+6,3</u>	<u>+1,9</u>	<u>+10,7</u>	<u>+4,3</u>	<u>+3,6</u>	<u>+3,8</u>
t	34	38	42	46			
g	291,0	322,5	337,5	355,0			
m	<u>+6,0</u>	<u>+18,5</u>	<u>+16,5</u>	<u>+23,0</u>			

Tab. 4: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Mononatriumorthophosphat im Futter (Gruppe P III)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	67,6	133,8	153,2	237,0	273,8	290,0	303,8
m	<u>+4,5</u>	<u>+5,4</u>	<u>+10,8</u>	<u>+10,1</u>	<u>+5,4</u>	<u>+3,2</u>	<u>+5,2</u>
t	34	38	42	46			
g	321,8	322,5	347,5	342,0			
m	<u>+8,8</u>	<u>+2,5</u>	<u>+12,5</u>	<u>+31,0</u>			

Tab. 5: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8% Hexanatriumtetrapolyphosphat in Futter (Gruppe P V)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	76,0	125,4	144,0	199,8	253,0	262,2	282,4
m	<u>+1,5</u>	<u>+7,5</u>	<u>+9,0</u>	<u>+24,3</u>	<u>+12,9</u>	<u>+12,4</u>	<u>+14,8</u>
t	34	38	42	46			
g	299,4	315,0	342,0	340,0			
m	<u>+9,9</u>	<u>+15,0</u>	<u>+2,0</u>	--			

Tab. 6: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Hexanatriumtetrapolyphosphat im Futter (Gruppe P VI)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	72,6	131,6	118,8	200,2	258,2	158,4	280,7
m	<u>+3,1</u>	<u>+7,2</u>	<u>+21,4</u>	<u>+23,1</u>	<u>+4,0</u>	<u>+1,9</u>	<u>+5,7</u>

t	34	38	42	46
g	298,4	337,5	352,0	357,0
m	<u>+21,3</u>	<u>+4,5</u>	<u>+18,0</u>	<u>+1,0</u>

Tab. 7: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Natriumhexametaphosphat im Futter (Gruppe P VII)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	74,6	121,8	144,6	203,0	224,2	241,6	258,0
m	<u>+3,8</u>	<u>+9,5</u>	<u>+18,4</u>	<u>+16,7</u>	<u>+20,1</u>	<u>+13,9</u>	<u>+16,3</u>

t	34	38	42	46
g	293,6	316,3	329,2	344,0
m	<u>+9,7</u>	<u>+10,9</u>	<u>+12,9</u>	---

Tab. 8: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Carbamidoorthophosphat im Futter (Gruppe P VIII)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	69,0	102,4	114,8	170,2	---	224,4	260,5
m	<u>+9,4</u>	<u>+8,3</u>	<u>+8,6</u>	<u>+7,6</u>		<u>+14,2</u>	<u>+13,6</u>

t	34	38	42	46
g	287,0	251,3	321,0	323,0
m	<u>+18,5</u>	<u>+17,4</u>	<u>+16,0</u>	<u>+19,4</u>

Tab. 9: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Dinatriumpyrophosphat im Futter (Gruppe P IX)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	70,0	113,6	133,2	176,7	235,5	255,7	274,5
m	<u>+8,7</u>	<u>+4,8</u>	<u>+16,5</u>	<u>+8,4</u>	<u>+15,8</u>	<u>+11,6</u>	<u>+14,1</u>
t	34	38	42	46			
g	289,8	283,0	333,0	344,0			
m	<u>+10,0</u>	0	<u>+27,0</u>	<u>+30,0</u>			

Tab. 10: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Dianatriumpyrophosphat im Futter (Gruppe P X)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	71,0	124,6	144,6	201,2	265,0	264,3	328,3
m	<u>+9,0</u>	<u>+7,6</u>	<u>+8,7</u>	<u>+14,5</u>	<u>+16,6</u>	<u>+1,8</u>	<u>+29,1</u>
t	34	38	42	46			
g	308,6	370,0	405,0	420,0			
m	<u>+15,9</u>	---	---	---			

Tab. 11: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Tetranatriumpyrophosphat im Futter (Gruppe P XI)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	72,6	109,2	125,4	186,5	219,5	237,7	251,0
m	<u>+1,9</u>	<u>+6,1</u>	<u>+12,3</u>	<u>+5,6</u>	<u>+3,1</u>	<u>+5,4</u>	<u>+3,8</u>
t	34	38	42	46			
g	285,0	291,0	314,5	313,5			
m	<u>+15,2</u>	<u>+5,0</u>	<u>+9,5</u>	<u>+1,5</u>			

Tab. 12: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Tetranatriumpyrophosphat im Futter (Gruppe XII)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	62,8	130,0	147,6	207,8	238,0	247,4	269,8
m	<u>-2,8</u>	<u>-1,4</u>	<u>+10,7</u>	<u>-9,3</u>	<u>+9,9</u>	<u>+2,5</u>	<u>+10,0</u>
n	34	32	42	46			
g	278,2	293,0	292,0	313,5			
m	<u>-14,4</u>	<u>-25,0</u>	<u>-11,0</u>	<u>-21,5</u>			

Tab. 13: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Carbamidoorthophosphat im Futter (Gruppe P XIII)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	70,8	118,0	111,0	176,0	170,0	264,3	275,0
m	<u>+3,4</u>	<u>-2,4</u>	<u>-12,9</u>	<u>-24,0</u>	<u>+28,6</u>	<u>+24,0</u>	<u>+19,3</u>
n	34	32	42	46			
g	302,8	309,0	335,6	341,3			
m	<u>-22,6</u>	<u>-16,5</u>	<u>+18,9</u>	<u>-29,7</u>			

Tab. 14: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 0,5 % Natriumtripolyphosphat im Futter (Gruppe P XIV)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	70,2	123,0	155,0	214,0	---	225,2	302,0
m	<u>-3,4</u>	<u>-2,4</u>	<u>+9,3</u>	<u>-15,0</u>		<u>+23,0</u>	<u>+18,3</u>
n	34	32	42	46			
g	332,8	337,0	329,3	360,3			
m	<u>-12,8</u>	<u>-14,0</u>	<u>-14,7</u>	<u>-21,5</u>			

Tab. 15: Entwicklung wachsender männlicher Ratten bei Verabreichung von 1,8 % Natriumtripolyphosphat im Futter (Gruppe P XV)

t	6	10	14	18	22	26	30
g	68,6	119,6	149,8	199,6	222,0	248,6	255,7
m	<u>+4,2</u>	<u>+9,7</u>	<u>+13,4</u>	<u>+13,6</u>	<u>+12,7</u>	<u>+12,6</u>	<u>+9,7</u>

t	34	38	42	46
g	320,6	297,4	324,5	319,0
m	<u>+22,5</u>	<u>+12,4</u>	<u>+12,8</u>	<u>+34,0</u>

Die Gewichtstabellen zeigen, daß die Entwicklung der mit Polyphosphaten gefütterten Ratten nicht signifikant verschieden ist von der Entwicklung der Kontrollgruppe.

4.2 Calcium- und Phosphorgehalt des Gesamtknochens

In Tabelle 16 sind die auf den Gesamtknochen umgerechneten Aschewerte von Calcium und Phosphor niedergelegt. Sie geben einen Hinweis auf den Mineralisierungsgrad des Skeletts.

Als Streuungsmaß wurde wiederum $s/\sqrt{n}$ gewählt.

Tab. 16: Calcium- und Phosphorgehalt des wasserfreien Gesamtknochens männlicher und weiblicher Ratten nach 10 Monate langer Verabreichung von Polyphosphaten.

Gruppe		Calcium (%)		Phosphor (%)	
		w	m	w	m
P	I	22,4 $\pm$ 0,37	23,9 $\pm$ --	11,2 $\pm$ 0,14	11,9 $\pm$ --
P	II	23,7 $\pm$ 0,28	24,1 $\pm$ 0,25	12,0 $\pm$ 0,14	12,0 $\pm$ 0,1
P	III	25,7 $\pm$ 2,8	24,3 $\pm$ 0,17	13,2 $\pm$ 1,45	12,5 $\pm$ 0,25
P	IV (K)	24,5 $\pm$ 0,48	26,5 $\pm$ 0,3	12,3 $\pm$ 0,25	13,0 $\pm$ --
P	V	23,8 $\pm$ 0,1	24,6 $\pm$ 0,27	11,7 $\pm$ 0,1	12,0 $\pm$ 0,14
P	VI	23,6 $\pm$ 0,28	26,1 $\pm$ 1,42	11,0 $\pm$ 0,39	12,9 $\pm$ 0,22
P	VII	19,5 $\pm$ 2,78	---	9,8 $\pm$ 1,29	---
P	VIII	23,1 $\pm$ 0,32	24,5 $\pm$ 0,45	11,5 $\pm$ 0,14	12,2 $\pm$ 0,22
P	IX	23,6 $\pm$ 0,22	27,7 $\pm$ 0,19	11,8 $\pm$ 0,1	11,8 $\pm$ 0,28
P	X	23,5 $\pm$ 0,27	24,5 $\pm$ 0,14	11,7 $\pm$ 0,1	12,1 $\pm$ 0,07
P	XI	23,1 $\pm$ 0,5	24,2 $\pm$ 0,3	11,5 $\pm$ 0,28	11,8 $\pm$ 0,14
P	XII	23,5 $\pm$ 0,27	24,3 $\pm$ 0,27	11,6 $\pm$ 0,1	12,0 $\pm$ 0,14
P	XIII	20,6 $\pm$ 2,47	24,5 $\pm$ 0,23	10,6 $\pm$ 1,18	12,3 $\pm$ 1,06
P	XIV	24,4 $\pm$ 0,32	24,9 $\pm$ 0,09	12,1 $\pm$ 0,14	12,4 $\pm$ 0,03
P	XV	23,8 $\pm$ 0,63	24,2 $\pm$ 0,06	11,7 $\pm$ 0,33	12,2 $\pm$ 0,1

Tabelle 16 zeigt, daß keine unterschiedlichen Mineralisierungsgrade zwischen der Kontrollgruppe (K) und den Testgruppen bestehen.

4.3. Calcium- und Phosphorgehalt der Asche

In Tabelle 17 sind die Ergebnisse der Calcium- und Phosphor-Bestimmungen in Kontroll- und Testgruppen zusammengestellt, und zwar als arithmetische Mittelwerte je einer Gruppe und deren mittlerer Abweichungen ($s/\sqrt{n}$).

Gruppe		Calcium (%)		Phosphor (%)		
		w	m	w	m	n
P	I	37,8 $\pm$ 0,11	37,6 $\pm$ 0,16	18,9 $\pm$ 0,05	18,7 $\pm$ ---	
P	II	37,4 $\pm$ 0,08	37,8 $\pm$ 0,1	18,9 $\pm$ 0,04	18,8 $\pm$ 0,06	
P	III	37,3 $\pm$ 0,09	37,8 $\pm$ 0,15	19,1 $\pm$ 0,05	18,8 $\pm$ 0,07	
P	IV (K)	37,9 $\pm$ 0,14	38,0 $\pm$ 0,05	19,0 $\pm$ 0,06	18,9 $\pm$ 0,05	
P	V	37,9 $\pm$ 0,08	38,3 $\pm$ 0,1	18,7 $\pm$ 0,07	18,8 $\pm$ 0,06	
P	VI	37,9 $\pm$ 0,07	38,0 $\pm$ 0,07	18,8 $\pm$ 0,03	18,8 $\pm$ 0,08	
P	VII	37,7 $\pm$ 0,08	---	18,9 $\pm$ 0,05	----	
P	VIII	37,6 $\pm$ 0,13	37,8 $\pm$ 0,07	18,7 $\pm$ 0,08	18,8 $\pm$ 0,08	
P	IX	37,5 $\pm$ 0,05	37,9 $\pm$ 0,1	18,8 $\pm$ 0,05	18,8 $\pm$ 0,04	
P	X	37,7 $\pm$ 0,18	38,4 $\pm$ 0,05	18,7 $\pm$ 0,08	19,0 $\pm$ 0,08	
P	XI	37,5 $\pm$ 0,08	38,3 $\pm$ 0,15	18,7 $\pm$ 0,06	18,7 $\pm$ 0,08	
P	XII	38,0 $\pm$ 0,08	37,8 $\pm$ 0,17	18,7 $\pm$ 0,06	18,7 $\pm$ 0,08	
P	XIII	37,9 $\pm$ 0,07	37,8 $\pm$ 0,2	18,7 $\pm$ 0,05	18,9 $\pm$ 0,13	
P	XIV	37,9 $\pm$ 0,15	37,8 $\pm$ 0,06	18,8 $\pm$ 0,05	18,8 $\pm$ 0,08	
P	XV	37,9 $\pm$ 0,11	37,3 $\pm$ 0,14	18,6 $\pm$ 0,08	18,8 $\pm$ 0,07	

Aus Tabelle 17 ist zu ersehen, daß die Zufütterung der Phosphate bzw. Polyphosphate in den angegebenen Konzentrationen keine Veränderung des Calcium- und Phosphorgehaltes der Asche verursacht.

DISKUSSION

Die Verfütterung von Polyphosphaten kann, wie aus der Literatur bekannt ist (12, 33), zu einer vorübergehenden oder anhaltenden Entwicklungsstörung führen. Diese scheint von der Konzentration im Futter, nicht von der Art der Polyphosphate (11) abhängig zu sein. Die Grenzkonzentration für eine Wachstums hemmung liegt offenbar bei 3 %.

Mit diesen Angaben stimmen die eigenen Befunde überein. Die Tabellen 1-15 zeigen, daß zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und den mit Phosphat gefütterten Tieren der Testgruppen keine statistisch haltbaren Unterschiede in der Zunahme des Körpergewichtes bestehen. Eindeutige Unterschiede fehlen auch zwischen den einzelnen Testgruppen selbst.

Als weitere phosphatbedingte Störung ist eine mangelhafte Mineralisierung des Skeletts denkbar. Ob sie bei der hier beschriebenen Versuchsanordnung eingetreten ist, läßt sich durch die in Tabelle 16 zusammengestellten Befunde entscheiden, da eine Abnahme des Aschegehaltes in einer Erniedrigung der auf den wasserfreien Gesamtknochen bezogenen Calcium- und Phosphorwerte zum Ausdruck kommen müßte. Ein Vergleich mit der Kontrollgruppe zeigt, daß nur zufällige Unterschiede bestehen. Ähnliche Untersuchungen sind aus der Literatur nicht bekannt. Die eigenen Befunde erlauben den Schluß, daß die verfütterten Polyphosphate in den angegebenen Konzentrationen keinen nachteiligen Einfluß auf die Mineralisierung des Skeletts haben.

Die Zusammensetzung der Asche hinsichtlich ihres Calcium- und Phosphorgehaltes wurde von HAHN, JAKOBI und SEIFEN (12) nach Verfütterung von Polyphosphaten untersucht. Sie fanden in der Gesamtasche ihrer Versuchstiere keine unphysiologischen Verhältnisse. Die in Tabelle 17 zusammengestellten eigenen Ergebnisse lassen keine eindeutigen Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und Testgruppen erkennen. Die ermittelten Calciumgehalte stimmen mit den Resultaten anderer Untersucher weitgehend überein (13, 25). Ähnliche Werte wurden auch in der Asche weiterer Vertebraten gefunden. MORGULIS (24) ermittelte an Calcium in der Asche beim Huhn 37, 24 %, beim Kaninchen 36, 25 % und beim Hund 35, 66 %, und an Phosphor in der Asche beim Huhn 16, 4 %, beim Kaninchen 15, 99 % und beim Hund 15, 56 %.

Die Verhältnisse von Calcium zu Phosphor sind in der nächsten Tabelle zusammengestellt.

Tab. 18: Calcium/Phosphor-Verhältnisse in der Knochenasche

Versuchsgruppen	Ca/P	
	♀	♂
Kontrollgruppe	2,0	2,0
I	2,0	2,0
II	1,9	2,0
III	1,9	2,0
V	2,0	2,0
VI	2,0	2,0
VII	1,9	---
VIII	2,0	2,0
IX	1,9	2,0
X	2,0	2,0
XI	2,0	2,0
XII	2,0	2,0
XIII	2,0	2,0
XIV	1,9	2,0
XV	2,0	1,9

Wie man sieht, liegen die Werte konstant um 2. Sie dürfen im Hinblick auf anderweitig erhobene Befunde (14, 19) als normal bezeichnet werden.

Zusammenfassend ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen, daß die hier verfütterten Polyphosphate in den angewandten Konzentrationen weder zu Entwicklungsstörungen führen noch die Mineralisierung des Skeletts beeinflussen oder ein unphysiologisches Verhältnis von Calcium zu Phosphor in

der Knochenasche verursachen. Sie dürfen deshalb bei der Ratte im Hinblick auf das Skelett als unschädlich bezeichnet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. 150 männlichen und weiblichen Ratten wurden 10 Monate lang Ortho- und Polyphosphatzusätze von 0,5 und 1,8 % zum Grundfutter verabreicht.
2. Es wurden verwendet: Mononatriumorthophosphat, Carbamidoorthophosphat, Dinatriumpyrophosphat, Tetranatriumpyrophosphat, Natriumtripolyphosphat, Hexanatriumtetrapolyphosphat und Natriumhexametaphosphat.
3. Die Zusätze hatten keinen Einfluß auf die Entwicklung der Versuchstiere.
4. Durch die Phosphate wurde die Mineralisierung des Skeletts nicht gestört.
5. Die Calcium- und Phosphorgehalte in der Knochenasche der Versuchstiere waren gegenüber den Befunden bei den Kontrolltieren unverändert.
6. Das Calcium/Phosphorverhältnis lag bei der Kontrollgruppe ebenso wie bei den Testgruppen zwischen 1,9 und 2,0.
7. Die Untersuchungen ergeben, daß die getesteten Phosphate in den angegebenen Konzentrationen keinen nachteiligen Einfluß auf das Skelett der Ratte haben.

L I T E R A T U R

- 1) BARACKMAN, R. A. and R. N. BELL: Food Eng. 25, 68-70 und 108 (1954)
- 2) BERGNER, K. G.: Archiv Pharm. 289/61, 76 (1956) Auto-referat
- 3) BORCHERT, O.: Chem. Techn. 8, 337 (1956)
- 4) BRONSCH, K.: Tierärztl. Umsch. 11, 386 (1956), Referat
- 5) CORBIAN, L.: Compt. rend. Soc. Biol. 122, 474 (1936)
- 6) EBNER, V.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. 63, 264 (1956)
- 7) EGGER, F.: "Lebensmittelchemisches Taschenbuch" Stuttgart: Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft 1950
- 8) FLASCHENTRÄGER, B. und E. LEHNARTZ: "Physiologische Chemie", Handbuch, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1954
- 9) GOSSELIN, R. E., A. ROTHSTEIN, G. J. MILLER and H. L. BERKE: J. Pharm. Exper. Ther. 106, 180-192 (1952)
- 10) GOSSELIN, R. E., C. S. TIDBALL, R. MEGIRIAN, E. A. MAYNARD, W. L. DOWNS and H. C. HODGE: J. Pharm. Exper. Ther. 108, 117-127 (1953)
- 11) HAHN, F., H. JAKOBI und R. RUMMEL: Naturwiss. 43, 539 (1956)
- 12) HAHN, F., H. JAKOBI und E. SEIFEN: Arzneimittelforschg. 8, 286 (1958)
- 13) HAMMETT, F. S.: J. Biol. Chem. 64, 693 (1925)
- 14) HOWLAND, J. W., K. MARRIOTT and KRAMER: J. Biol. Chem. 68, 721 (1926)

- 15) JONES, H.J. and M. RAPOPORT: J. Biol. Chem. 93, 153 (1931)
- 16) KOTTER, L.: "Zur Wirkung kondensierter Phosphate und anderer Salze auf tierisches Eiweiß", Hannover: Verlag Schaper 1960
- 17) LAUERSEN, F.: Z. Lebensmittelunt. u. -forschung 96, 418 (1953)
- 18) LANG, K., L. SCHACHINGER, O. KARGES, F. K. BLUMENBERG, G. ROSSMÜLLER, I. SCHMUTTE: Ärztl. Forschg. 1, II/3, (1956)
- 19) LANG, W.: Regensb. Jahrb. ärztl. Fortb. 5, 189-195 (1956)
- 20) MATTENHEIMER, H.: Naturwiss. 40, 530 (1953)
- 21) McCOLLUM, E. V. and N. SIMMONDS: J. Biol. Chem. 33, 55 (1918)
- 22) McKAY, E. and J. OLIVER: J. Exp. Med. 61, 319 (1935)
- 23) McLEAN, F. C.: in "Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knochengewebe", Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1956
- 24) MORGULIS, S.: J. Biol. Chem. 93, 455 (1931)
- 25) PICKERING, D. E., R. F. FORAN, K. G. SCOTT and J. T. CRANE: J. Dis. Child. 92, 276 (1956)
- 26) REAGENZIEN-ABC Riedel-DeHaen, Einlage Ammoniummolybdat
- 27) RUF, F.: Mitt. Lebensmittelunt. u. -hygiene 48, 451 (1957)
- 28) SALVESEN, H.: J. Biol. Chem. 60, 311 (1924)
- 29) SAMUELSON, O.: Svensk. kem. Tidskr. 56, 343 (1944)

- 30) SCHMID, A. und K. ZIPF: Biochem. Ztschr. 331, 144 (1959)
- 31) SCHREIER, K. u. H. G. NÖLLER: Arch. Exp. Path. Pharm. 227, 199 (1955)
- 32) THILO, E.: Angew. Chem. 67, 141 (1955)
- 33) THILO, E.: Act. chim. Acad. Scient. Hung. 12, 221 (1957)
- 34) VAN ESCH, J., H. VINK, S. J. WIT und H. VAN GENDEREN: Arzneimittelforsch. 7, 172 (1957)
- 35) WUNDRAM - SCHÖNBERG: "Tierärztl. Lebensmittelüberwachung", Berlin-Hamburg: Verlag Paul Parey, 6. Aufl. 1953
- 36) WEBER, E.: "Grundriß der biologischen Statistik", Jena: Fischer-Verlag 1948
- 37) ZIPF, K.: Arzneimittelforsch. 7, 445 (1957)

Herrn Professor Dr. K. Z i p f danke ich für
die Überlassung des Themas und Herrn Dr. A.
S c h m i d für stets freundlich gewährte Rat-
schläge und Unterstützung.

LEBENS LAUF

Am 30. Oktober 1928 wurde ich in Köln als Tochter des Kaufmanns Clemens Bous geboren. Von 1935 bis 1939 besuchte ich die Volksschule in Köln und ab Ostern 1939 die Kaiserin-Augusta-Oberschule in Köln, von 1941 bis 1942 die Mädchen-Oberschule in Kempten/Allgäu, von 1942 bis 1944 die Mädchenoberschule in Bingen/Rhein und von 1945 bis 1948 das Städt. Mädchengymnasium in Köln-Kalk. Nach mehrjähriger Berufstätigkeit und (ab 1951) gleichzeitigem Besuch des Städt. Abendgymnasiums in Köln legte ich im Frühjahr 1954 die Reifeprüfung ab. Anschließend begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München. Im 6. und 7. Semester studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien. Im März 1959 legte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München das Staatsexamen ab.

